



PCT

特許協定条約に基づいて公開された国際出願

<p>(51) 国際特許分類7 C07K 7/64, 14/705, A61K 39/21</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO00/47609</p> <p>(43) 国際公開日 2000年8月17日(17.08.00)</p>
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP99/06174</p> <p>(22) 国際出願日 1999年11月5日(05.11.99)</p> <p>(30) 優先権データ 特願平11/32990 1999年2月10日(10.02.99) JP</p> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 日水製薬株式会社 (NISSUI PHARMACEUTICAL CO., LTD.)(JP/JP) 〒170-0002 東京都豊島区巣鴨二丁目11番1号 Tokyo, (JP)</p> <p>(72) 発明者; および (75) 発明者/出願人 (米国についてののみ) 庄司省三(SHOJI, Shozo)(JP/JP) 〒862-8003 熊本県熊本市楠5丁目4-22 Kumamoto, (JP)</p> <p>(74) 代理人 弁理士 光来出良彦(MITSUKUDE, Yoshihiko) 〒101-0063 東京都千代田区神田淡路町2-1 T金井ビル Tokyo, (JP)</p>		<p>(81) 指定国 CA, US</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書 明細書とは別に規則13の2に基づいて提出された生物材料の寄託に関する表示。</p>
<p>(54)Title: CYCLIC PEPTIDES AND AIDS VACCINES</p> <p>(54)発明の名称 環状ペプチド及びエイズワクチン</p> <p>(57) Abstract Cyclic peptides containing as constituting strand(s) one or two amino acid sequences selected from among amino acid sequences Glu-Ala-Asp-Asp-Arg and Ser-Gln-Lys-Glu-Gly; and AIDS vaccines containing these cyclic peptides as the active ingredient. Preferably, a cyclic dodecapeptide represented by formula (I) and an AIDS vaccine containing this peptide as the active ingredient. From the viewpoints of absorption <i>in vivo</i> and antibody expression, it is desirable that active groups selected from carboxyl, amino and hydroxyl groups contained in these peptides are attached to substituents. The above cyclic dodecapeptide can neutralize the second receptor in the infection of human beings with HIV-1 virus.</p>		

(57)要約

アミノ酸配列 G l u - A l a - A s p - A s p - A r g 及びアミノ酸配列 S e r - G l n - L y s - G l u - G l y から選ばれた 1 種又は 2 種のアミノ酸配列を構成鎖として含む環状ペプチド、及び該環状ペプチドを有効成分とするエイズワクチン。好ましくは下記の式で示される環状ドデカペプチド及び該環状ドデカペプチドを有効成分とするエイズワクチン。該環状ペプチドに含まれるカルボキシル基、アミノ基及び水酸基から選ばれた活性基は、置換基に結合されていることが生体内への吸収及び抗体発現において好ましい。環状ドデカペプチドは、H I V - 1 ウイルスがヒト感染時に利用する第 2 受容体を中和させることができる。

A r g - A s p - A s p - A l a - G l u - G l y

G l y - A s p - S e r - G l n - L y s - G l u

PCTに基づいて公開される国際出願のパフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE	アラブ首長国連邦	DM	ドミニカ	KZ	カザフスタン	RU	ロシア
AG	アンティグア・バーブーダ	DZ	アルジェリア	LC	セントルシア	SD	スーダン
AL	アルバニア	EE	エストニア	LI	リヒテンシュタイン	SE	スウェーデン
AM	アルメニア	ES	スペイン	LK	スリ・ランカ	SG	シンガポール
AT	オーストリア	FI	フィンランド	LR	リベリア	SI	スロヴェニア
AU	オーストラリア	FR	フランス	LS	レソト	SK	スロヴァキア
AZ	アゼルバイジャン	GA	ガボン	LT	リトアニア	SL	スエーラ・レオネ
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB	英国	LU	ルクセンブルグ	SN	セネガル
BB	バルバドス	GD	グレナダ	LV	ラトヴィア	SZ	スワジランド
BE	ベルギー	GE	グルジア	MA	モロッコ	TD	チャード
BF	ブルキナ・ファソ	GH	ガーナ	MC	モナコ	TG	トーゴ
BG	ブルガリア	GM	ガンビア	MD	モルドヴァ	TJ	タジキスタン
BJ	ベナン	GN	ギニア	MG	マダガスカル	TM	トルクメニスタン
BR	ブラジル	GR	ギリシャ	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TR	トルコ
BY	ベラルーシ	GW	ギニア・ビサオ		共和国	TT	トリニダード・トバゴ
CA	カナダ	HR	クロアチア	ML	マリ	TZ	タンザニア
CF	中央アフリカ	HU	ハンガリー	MN	モンゴル	UA	ウクライナ
CG	コンゴ	ID	インドネシア	MR	モーリタニア	UG	ウガンダ
CH	スイス	IE	アイルランド	MW	マラウイ	US	米国
CI	コートジボアール	IL	イスラエル	MX	メキシコ	UZ	ウズベキスタン
CM	カメルーン	IN	インド	MZ	モザンビーク	VN	ヴェトナム
CN	中国	IS	アイスランド	NE	ニジェール	YU	ユーゴスラヴィア
CR	コスタ・リカ	IT	イタリア	NL	オランダ	ZA	南アフリカ共和国
CU	キューバ	JP	日本	NO	ノールウェー	ZW	ジンバブエ
CY	キプロス	KE	ケニア	NZ	ニュージーランド		
CZ	チェッコ	KG	キルギスタン	PL	ポーランド		
DE	ドイツ	KP	北朝鮮	PT	ポルトガル		
DK	デンマーク	KR	韓国	RO	ルーマニア		

明 細 書

環状ペプチド及びエイズワクチン

技術分野

5 本発明は、H I V - 1 ウイルスのヒト感染防止に有効な環状ペプチド及びエイズワクチンに関する。さらに詳しくは、C X C R 4 及び C C R 5 と呼ばれる第 2 受容体を介して H I V - 1 ウイルス感染を中和させることができる中和抗体を産出させるための抗原としての環状ペプチド、及び該抗原を有効性分とするエイズワクチンに関する。

10

背景技術

 エイズの病原性ウイルス（H I V - 1 ウイルス）がヒト感染時に利用する第 2 受容体（セカンドレセプター）が 1 9 9 6 年に発見されている（Yu Feng et al., Science, 272, 872-877, 1996）。この第 2 受容体はすでに報告されているケモカイン受容体のうち C X C R 4 及び C C R 5 と呼ばれている 2 種類の受容体である。H I V - 1 ウイルスは、どちらか一方の受容体を利用して吸着侵入し、ヒトのリンパ球、マクロファージ、樹状細胞に感染することが分かっている。

15

20

 一方、コーカサス人の約 1 ～ 2 % の人々は H I V - 1 ウイルスの感染に対して抵抗性を示すことが報告され、その原因はケモカイン受容体である第 2 受容体（C X C R 4、C C R 5）の遺伝的欠損あるいは遺伝的不完全性によるものであることが判明している（Rong Liu, et al., 86, 367-377, 1996）。

25

 これらの知見から、H I V - 1 ウイルスの感染防止には第 2 受容体を中和させることの重要性が注目され、近年該第 2 受容体を中和

させることができる中和抗体を産出させる試みがなされている。しかしながら、現在までこのような中和抗体の産出に成功した報告は見当たらない。

そこで本発明は、第2受容体タンパク質の構成ペプチドを一平面的にとらえるような従来の手法を行わず、第2受容体タンパク質のループ構造に着目し、立体的視点から第2受容体を中和させることができる中和抗体をインビボで産出させることができる立体的な抗原を提供すること、及び該抗原を有効成分とするエイズワクチンを提供することを目的とする。

10

発明の開示

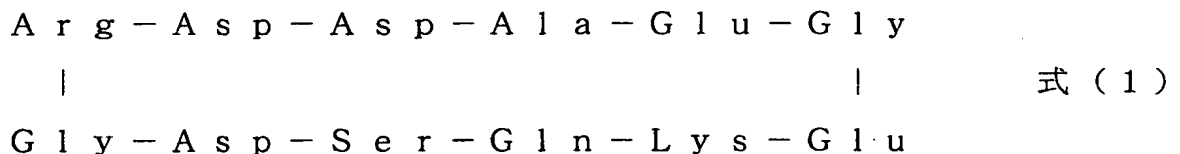
本発明者は、T-細胞系における第2受容体（略語：CXCR4）及びマクロファージ系細胞における第2受容体（略語：CCR5）のモデルを組立て、立体的視点から観察した。そこで、第2受容体タンパク質分子中の第2小ループ（UPL）を構成する2個のペ
15 ンタペプチドとして、T-細胞系由来のGlu₁₇₉ - Ala₁₈₀ - Asp₁₈₁ - Asp₁₈₂ - Arg₁₈₃ と、マクロファージ系細胞由来のSer₁₆₉ - Gln₁₇₀ - Lys₁₇₁ - Glu₁₇₂ - Gly₁₇₃ が、第2受容体を中和させることができるHIV-1ウイルス感染抑止抗体の産出のための新規な抗原の構成要素として利用可能で
20 あるかどうかについて着目して本発明を完成した。

即ち、本発明は、T-細胞系の第2受容体タンパク質中の第2小ループに含まれる少なくとも5個のアミノ酸配列、及びマクロファージ系細胞の第2受容体タンパク質中の第2小ループに含まれる少
25 なくとも5個のアミノ酸配列から選ばれた1種又は2種のアミノ酸配列を構成鎖として含む環状ペプチドが新規化合物であることに特徴があり、及び該化合物を有効成分とするエイズワクチンとするこ

とに特徴がある。

さらに具体的には、本発明は、アミノ酸配列 G l u - A l a - A s p - A s p - A r g 及びアミノ酸配列 S e r - G l n - L y s - G l u - G l y から選ばれた 1 種又は 2 種のアミノ酸配列を構成鎖
5 として含む環状ペプチドが新規化合物であることに特徴があり、及びこれらの化合物を有効成分とするエイズワクチンとすることに特徴がある。

さらに具体的な本発明は、次式 (1) で示される環状ペプチドが新規化合物であることに特徴があり、及び該化合物を有効成分とするエイズワクチンとすることに特徴がある。
10



15

図 1 は、T-細胞系の第 2 受容体タンパク質分子の該細胞膜上の配置 (図 1 左上段) と、マクロファージ系細胞の第 2 受容体タンパク質分子の該細胞膜上の配置 (図 1 右上段) と、これらの第 2 受容体タンパク質分子の各第 2 小ループのペプチドから合成された本発明の環状ドデカペプチドを示す。図 1 において T-細胞系の第 2 受容体タンパク質分子 (C X C R 4) は第 1 ループ、第 2 ループ、第 3 ループ及び第 2 小ループからなる立体構造を有し、またマクロファージ系細胞の第 2 受容体タンパク質分子 (C C R 5) も第 1 ループ、第 2 ループ、第 3 ループ及び第 2 小ループからなる立体構造を有す。
20
25

T-細胞系の第 2 受容体タンパク質分子 (C X C R 4) 中の第 2 小ループには、アミノ酸配列 G l u₁₇₉ - A l a₁₈₀ - A s p₁₈₁

— A s p₁₈₂ — A r g₁₈₃ が含まれており、またマクロファージ系細胞の第 2 受容体タンパク質分子 (CCR5) 中の第 2 小ループには、アミノ酸配列 S e r₁₆₉ — G l n₁₇₀ — L y s₁₇₁ — G l u₁₇₂ — G l y₁₇₃ が含まれている。

- 5 前記 C X C R 4 と C C R 5 の両第 2 小ループのアミノ酸配列からなる両ペプチドをスペーサアームジペプチドとして — G l y — A s p — を介して環を形成させて、本発明の前記式 (1) で示される新規化合物環状ドデカペプチドを得る (図 1 の下段の環状ペプチド)。

- 10 前記式 (1) で示される環状ドデカペプチドに含まれるカルボキシル基、アミノ基及び水酸基から選ばれた活性基は、置換基に結合されていることが生体内への吸収及び抗体発現において好ましい。このような置換基は、

$\text{CH}_3 \text{ (CH}_2\text{)}_n \text{ — COOH}$ の脂肪酸残基 ($n : 0 - 20$)

- 15 、及び

$\text{CH}_3 \text{ (CH}_2\text{)}_n \text{ — OH}$ のアルコール残基 ($n : 0 - 20$)

- 、並びにこれらの化合物残基の不飽和化合物残基が選ばれ、生体親和性があるので好ましい。好適な脂肪酸の例には、ラウリン酸、ミリスチン酸、パルミチン酸、ステアリン酸、アラキドン酸及びこれ
20 らの不飽和脂肪酸が挙げられ、また、好適な高級アルコールの例には、ラウリルアルコール、ミリスチルアルコール、パルミチルアルコール、ステアリルアルコール、エイコサノール及びこれらの不飽和アルコールが挙げられる。

- 前記式 (1) で示される環状ドデカペプチドは H I V — 1 ウイル
25 スの感染抑止性の第 2 受容体中和抗体を産出するための免疫抗原として利用できる。該免疫抗原について次に述べる。

該環状ドデカペプチドを固相樹脂に結合させ、抗体スクリーニン

グ用アッセイ抗原とする。一方、マウスを免疫抗原、例えば、環状ドデカペプチド-マルチプル抗原ペプチド（略語：CDP-MAP）で免疫し、常法のハイブリドーマ法によってモノクローナル抗体を得る。HIV-1ウイルスの感染防止性については、上記方法で
5 得られた数種のハイブリドーマ（抗体を産生するB細胞と癌細胞ミエローマ細胞との融合細胞）を得、該ハイブリドーマの培養上清を用いて常法により抗HIV-1ウイルス活性を測定することにより、培養上清がHIV-1ウイルスの感染を防止することが認められる。

- 10 したがって、前記式（1）で示される環状ドデカペプチドは、HIV-1ウイルスの感染抑止効果を有する抗体産出のための免疫抗原として利用可能であるので、エイズワクチンの有効成分として有用である。

- 本発明のエイズワクチンは、アミノ酸配列Glu-Ala-Asp-Asp-Arg及びアミノ酸配列Ser-Gln-Lys-Glu-Glyから選ばれた1種又は2種のアミノ酸配列を構成鎖として含む環状ペプチドを有効成分とすることができる。
- 15

- 本発明のエイズワクチンは、前記環状ペプチドを有効成分とし、該有効成分が置換基及び／又は付加物により修飾されていてもよく、
20 、或いは薬理的に許容される塩となっていてよい。該薬理的に許容される塩には、塩酸、硫酸、硝酸、亜硝酸、臭化水素酸、ヨウ素水素酸、リン酸、有機酸が挙げられる。

前記式（1）の化合物の置換基が高級脂肪酸である場合の例を次に示す。

A r g - A s p - A s p - A l a - G l u - G l y

|

|

式 (2)

G l y - A s p - S e r - G l n - L y s - G l u

|

5

M A P

上記式 (2) で示す環状ドデカペプチド-M A P 1 当量に 9 - フ
ルオレニルメトキシカルボニルジメチルスルホニウムメチルスル
フェート (Fmoc - D S P : 商品名、Novabiochem 社製) 5 当量を
10 加えて、該環状ドデカペプチド-M A P の K₄ の ε - アミノ基をブ
ロックした後、カルボキシ基 (E₅、E₇、D₉、D₁₀) を E D
C、D C C、B O P 等で活性化し、過剰の高級アルコール類 [C H
3 (C H₂)_n - O H] を加えてエステル化する。また上記式 (2)
15 で示す環状ドデカペプチド-M A P の S e r の水酸基を酸クロラ
イド [C H₃ - (C H₂)_n - C O C l] 法によりエステルとして
脱 Fmoc した後、ペプチドワクチンの基材として用いる。該ワクチ
ンを生体に投与すると、リンパ組織に移行し、エステルが分解され
、元の式 (2) で示す環状ペプチド-M A P となり、該ペプチド-M
A P が免疫系を活性化し、抗体を産生し、エイズウイルスの感染
20 を中和することになる。

本発明のエイズワクチンは、経口剤或いは非経口剤の形態で医薬
組成物として用いることができる。経口剤の形態は、錠剤、散剤、
顆粒剤、カプセル剤、マイクロカプセル剤、液剤の形態が挙げられ
る。また非経口剤の形態は、液剤の形態で主として注射液、或いは
25 座薬の形態で用いる。これらの製剤は、通常、周知の製剤化補助成
分、例えば、担体、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、安定剤、矯
味矯臭剤等を添加することができる。

その使用量は、症状、年齢により異なるが、経口投与の場合には、一日当たり 0.1 ~ 1000 mg / kg 体重を通常成人に対して投与することができる。

5 発明を実施するための最良の形態

実施例 1

(1) HIV-1 第 2 受容体 2 種の第 2 小ループ形成キメラ環状ペプチドの合成

ペプチドの固相合成に用いられる樹脂は、各アミノ酸残基の保護基を傷めず、弱酸でペプチドを遊離できる 2-クロロトリシルクロ
 10 ライド樹脂 0.25 mmol (368 mg) を秤量して用いた。ペプチド合成は Fmoc (9-フルオレニルメトキシカルボニル) ケミストリーに従って、次の 1) ~ 12) の各 Fmoc-側鎖保護アミノ酸 (1.0 mmol) を用いて、ペプチド合成機により全自動
 15 で C 末端から合成し、Fmoc-側鎖保護ペプチド樹脂を得た。

1) Fmoc-Gly-OH 1.0 mmol

2) Fmoc-L-Arg(Pmc)-OH 1.0 mmol

Pmc: 2, 2, 5, 7, 8-ペンタメチルクロマン-6-スルホニル

20 3) Fmoc-L-Asp(OtBu)-OH 1.0 mmol

OtBu: o-t-ブチル

4) Fmoc-L-Asp(OtBu)-OH 1.0 mmol

5) Fmoc-L-Ala-OH 1.0 mmol

6) Fmoc-L-Glu(OtBu)-OH 1.0 mmol

25 7) Fmoc-Gly-OH 1.0 mmol

8) Fmoc-L-Glu(OtBu)-OH 1.0 mmol

9) Fmoc-L-Lys(Boc)-OH 1.0 mmol

B o c : ベンジルオキシカルボニル

10) F m o c - L - G l n (T r t) - O H 1 . 0 m m o l

T r t : トリチル

11) F m o c - L - S e r (t B u) - O H 1 . 0 m m o l

5 t B u : t - ブチル

12) F m o c - L - A s p (O B z l) - O H 1 . 0 m m o l

O B z l : O - ベンジル

前記工程で得られた保護ペプチド樹脂 (3 0 0 m g) を酢酸 / ト
リフクロエタノール / ジクロロメタン (1 : 1 : 8) 混液 5 m l を
10 加え、室温で 3 0 分攪拌し、濾過して弱酸で遊離した側鎖保護ペ
プチドと樹脂に分け、常法に従って濾液にエーテルを加えて、生じた
沈殿に適当量アセトニトリルを加えて凍結乾燥した。この側鎖保護
直鎖ドデカペプチドの C 末端 G l y のカルボキシル基とアミノ末端
A s p (O B z l) のアミノ基を結合させ、環状ドデカペプチドを
15 次のように合成した。

側鎖保護直鎖ドデカペプチド 1 3 0 m g を 1 0 % トリフクロエタ
ノールを含むジメチルホルムアミド溶液 8 0 m l に溶かし、ベンゾ
トリアゾール - 1 - イル - オキシートリス - (ジメチルアミノ) -
ホスホニウムヘキサフルオロフォスフェート (略語 : B O P) をペ
20 プチドの 5 倍量加えて 2 4 時間、室温で放置し反応させ、常法に従
って側鎖保護環状ペプチド 8 0 m g を得た。

この側鎖保護環状ドデカペプチドをジメチルホルムアミド 1 0 m
l に溶解し、パラジウム炭素 5 0 m g を加えて水素ガスで 2 4 時間
接触還元し、常法に従ってカルボキシメチル側鎖保護環状ドデカペ
25 プチド (1 5 m g) を得た。なお、環状ドデカペプチドの確認は全
保護基を常法により、脱保護し、レーザーマス (M A L D I - T O
F 型質量分析計) で確認した。下記の表 1 にレーザーマスによる環

状ペプチド及び側鎖（非環状）ペプチドの理論値及び実測値を示した。図 2 に、環状ペプチド及び側鎖（非環状）ペプチドのMALDI TOF 型質量分析スペクトルを示す。この結果（脱水縮合より、環を形成し、水分子質量 18 が減少する）より環状ドデカペプチドを確認した。

表 1

	質 量	理 論 値	実 測 値
環状ペプチド	1287.53	1288.53	1288.54
直鎖（非環状）ペプチド	1305.54	1306.55	1306.73

（2）環状ドデカペプチド-MAP（略語：CDP-MAP）からなる免疫抗原の調製

カルボキシメチル側鎖保護環状ドデカペプチド（略語：CM-SBCDP）のカルボキシル基とMAP-樹脂の4分枝ポリリジンのアミノ基をBOP法により次のようにして結合させた。

MAP-樹脂（0.46 mmol 4分枝ポリリジン／樹脂）70 mg（32 μ mol）をジメチルホルムアミドで膨潤させ、20%ピペリジン／ジメチルホルムアミド（略語：DMF）10 mlで3回、MAP-樹脂の脱保護（脱Fmoc）を行い、イソプロパノール5 mlで3回洗浄し、イソプロパノールを除去して4分枝ポリリジンのアミノ末端を露出させた。このMAP-樹脂にカルボキシメチル側鎖保護環状ドデカペプチドジメチルホルムアミド溶液10 ml（32 μ mol）を加え、BOP法で結合させた。側鎖保護環

状ドデカペプチド（略語：S B C D P）-M A P-樹脂に対して常法に従ってトリフルオロ酢酸（略語：T F A）でペプチドを切り離し、環状ドデカペプチド-M A P（略語：C D P-M A P）12 m gを得て、抗環状ドデカペプチド（略語：A n t i-C D P）モノ
5 クローナル抗体を調製するための免疫抗原とした。

（3）抗環状ドデカペプチド（A n t i-C D P）モノクローナル抗体を調製するためのアッセイ用抗原であるC D P-ピン樹脂（クラウン樹脂）の調製

抗C D P単クローン抗体を培養液上清から効率よく作出するためのアッセイ用抗原は、次のようにして調製した。エピトープスキャ
10 ニングキットマニュアル（Chiron Mimotopes Pty Ltd, Clayton, Victoria, Australia）に従って、側鎖保護環状ドデカペプチドをピン樹脂（クラウン樹脂）の先端の β -A l aに結合させて、C D P-ピン樹脂（クラウン樹脂）を得た。

15 （4）モノクローナル抗体産生ハイブリドーマの調製

免疫抗原ペプチドとして環状ドデカペプチド-M A Pを用いてB a l b / c マウスを基礎免疫し、常法に従い骨髓腫細胞（P 3 U 1）とポリエチレングリコールを用いて細胞融合を行った。融合後、H A T 培地で選別培養し、ハイブリドーマ細胞がコロニーを形成し
20 たウエルについて、その培養上清中の抗体価を抗原ペプチドを用いたマルチピンエライザ法により測定し、抗体陽性と判断した細胞群を限外希釈により2回クローニングを行い、モノクローナル抗体産生ハイブリドーマを常法に従い確立した。基礎免疫は、免疫抗原ペプチド凍結乾燥品を1 m g / m l の濃度でP B S（-）に溶解し
25 、これと免疫賦活化剤であるF r e u n d 完全アジュバンド（F C A）またはF r e u n d 不完全アジュバンド（F I A）と1 : 1. 2 ~ 1 : 1. 4 の比率で混和し、調和したエマルジョンを用いた。

このエマルジョンを1週間毎に1回、計4回 $400\mu\text{l}$ /マウスの用量で腹腔内投与を行った。最初の2回はFCA、後の2回はFIAとのエマルジョンを用いた。最終免疫は、基礎免疫終了後1カ月経過してから、免疫抗原ペプチド(MAP)凍結乾燥品を $200\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度でPBS(-)に溶解したものを $200\mu\text{l}$ /マウスの用量で尾静脈より投与した。

①脾細胞の調製及び細胞融合

脾細胞の調製及び細胞融合は常法に従って行った。最終免疫から3～4日後にマウスを瀉血致死させ、脾細胞を摘出し、Hank's balanced salt solution(HBSS)中でほぐして、溶血バッファー処理及び遠沈により赤血球を除去したものを脾細胞とした。P3U1:脾細胞=1:8～1:10の比率で混合し遠沈を行い、得られたペレットにポリエチレングリコール溶液を添加することで融合を行った。融合処理後、HAT培地に穏やかに懸濁したものを48ウェルプレートにまき、 37°C で融合細胞がコロニーを形成するまで培養を行った。

②抗体産生ハイブリドーマのスクリーニング

特異抗体産生ハイブリドーマのスクリーニングは、免疫抗原ペプチドを固相化抗原として用いるエライザ法による一次スクリーニング及びマルチピンペプチドを固相化抗原として用いる二次スクリーニングを連続して行うことにより、目的ハイブリドーマを選別した。エライザには、一次抗体としてハイブリドーマの培養上清、二次抗体としてペルオキシダーゼ(POD)標識抗マウスIgG、発色基質としてTMBZ(3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン)、及び発色停止液として $0.3\text{N H}_2\text{SO}_4$ を用い、主波長 450nm 、参照波長 630nm の吸光度を測定した。

③目的抗体産生ハイブリドーマのクローニング

スクリーニングアッセイで高い抗体価を示したモノクローナルハイブリドーマ株を、1個／ウェルになるように限外希釈を行い、マウス胸腺より調製した支持細胞とともに96ウェルプレートにまき培養を行った。2回クローニング操作を行ない得られたモノクローナル細胞群に関して、抗原ペプチドを用いたマルチピンエライザによるスクリーニングを行ない、両者のエライザにおいて最も高い抗体価を示した細胞株をモノクローナル抗体産生ハイブリドーマとし、その培養上清からモノクローナル抗体を常法にしたがって精製した。本モノクローナル抗体のサブクラスはIgM κ であった。このハイブリドーマは、平成11年2月3日に工業技術院生命工学技術研究所に受託番号FERM P-17198として受託され、平成11年10月27日にブダペスト条約に基づく国際寄託へ寄託番号(FERM BP-6925)として移管された。確立した細胞は拡張し、培養後、液体窒素タンク中で凍結保存した。

15 (5) 抗HIV活性の測定

抗HIV活性は前田らの方法(Y. Maeda, et al. 12th World AIDS Conference Geneva, Abstract P4, June 28-July 3, 1998)に従って測定した。本発明者が作出した抗CDPモノクローナル抗体を産生する細胞の培養液及びその対照として本抗体を産生しない同細胞の同条件下における培養液を用いた。本抗体を含む培養液(200 μ l)は、HIV-1ウイルスの感染率を対照と比較して、30分で対照の61%、60分で35%に低下させ、HIV-1ウイルスの感染性を阻害することが認められた。

25 産業上の利用可能性

本発明の環状ペプチドは、新規化合物であり、CXCR4及び／又はCCR5と呼ばれる第2受容体を介してHIV-1ウイルス感

染を中和させることができる中和抗体（抗H I V－1ウイルス活性のある抗体）を生体内で産出させるための抗原として有用であり、また、エイズワクチンの有効成分として有用である。

5

10

15

20

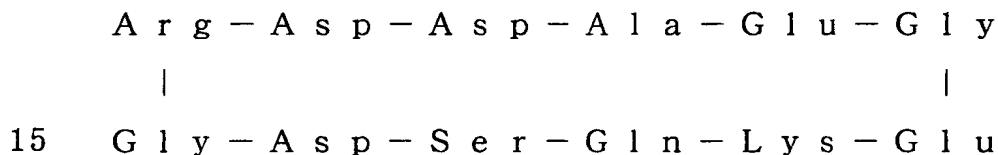
25

請 求 の 範 囲

1. T-細胞系の第2受容体タンパク質中の第2小ループに含まれる少なくとも5個のアミノ酸配列、及びマクロファージ系細胞の第2受容体タンパク質中の第2小ループに含まれる少なくとも5個のアミノ酸配列から選ばれた1種又は2種のアミノ酸配列を構成鎖として含む環状ペプチド

2. アミノ酸配列 G l u - A l a - A s p - A s p - A r g 及びアミノ酸配列 S e r - G l n - L y s - G l u - G l y から選ばれた1種又は2種のアミノ酸配列を構成鎖として含む環状ペプチド。

3. 下記の式で示される環状ペプチド。



4. 前記環状ペプチドに含まれるカルボキシル基、アミノ基及び水酸基から選ばれた活性基が置換基に結合されている請求項1、2又は3記載の環状ペプチド。

5. 前記置換基が、

$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n - \text{COOH}$ の脂肪酸残基 ($n: 0 - 20$)、及び

- $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_n - \text{OH}$ のアルコール残基 ($n: 0 - 20$)、並びにこれらの化合物残基の不飽和化合物残基から選ばれたものである請求項4記載の環状ペプチド。

6. 請求項1記載の環状ペプチドを有効成分とするエイズワクチン。

7. 請求項 2 記載の環状ペプチドを有効成分とするエイズワクチン

。

8. 請求項 3 記載の環状ペプチドを有効成分とするエイズワクチン

。

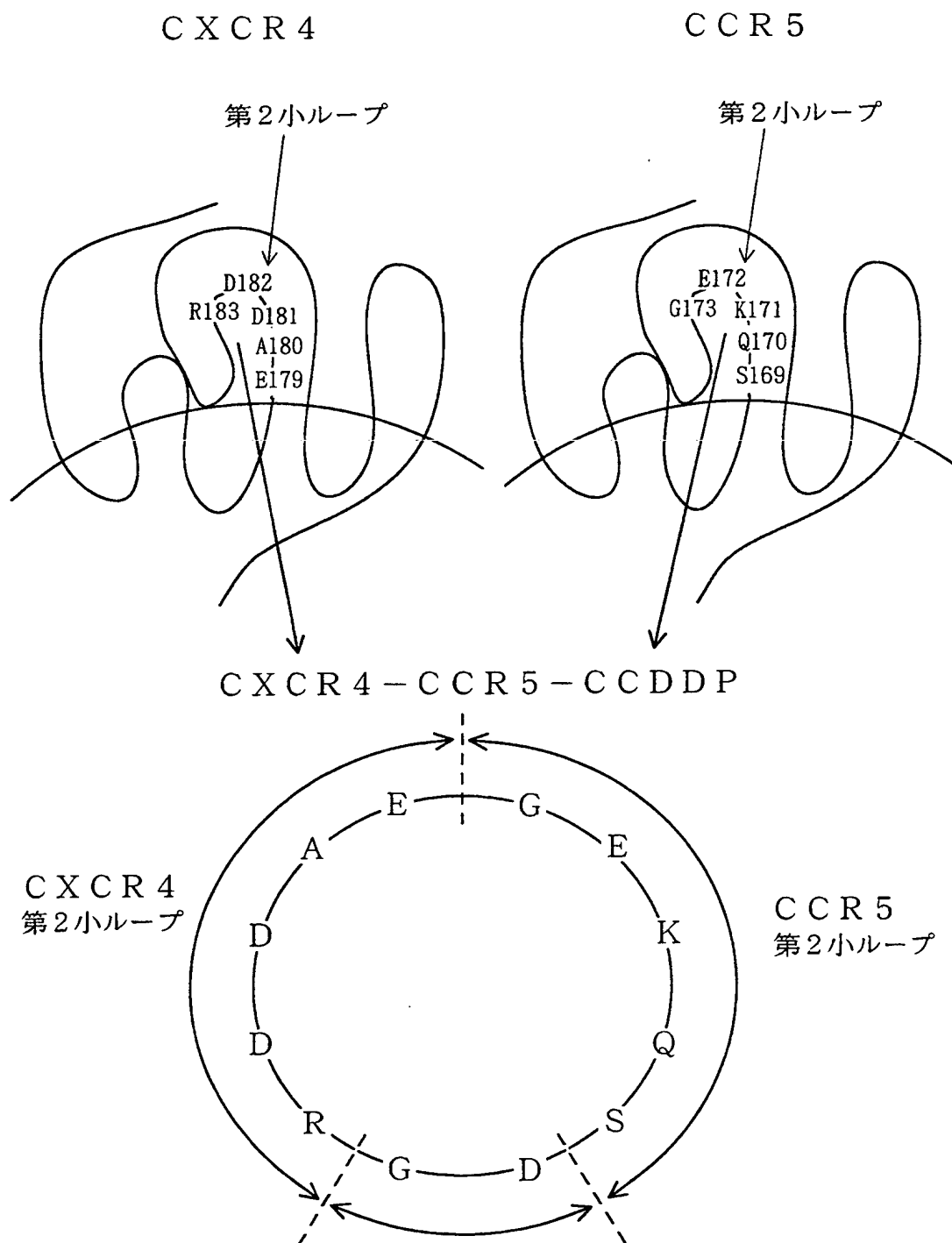
5

10

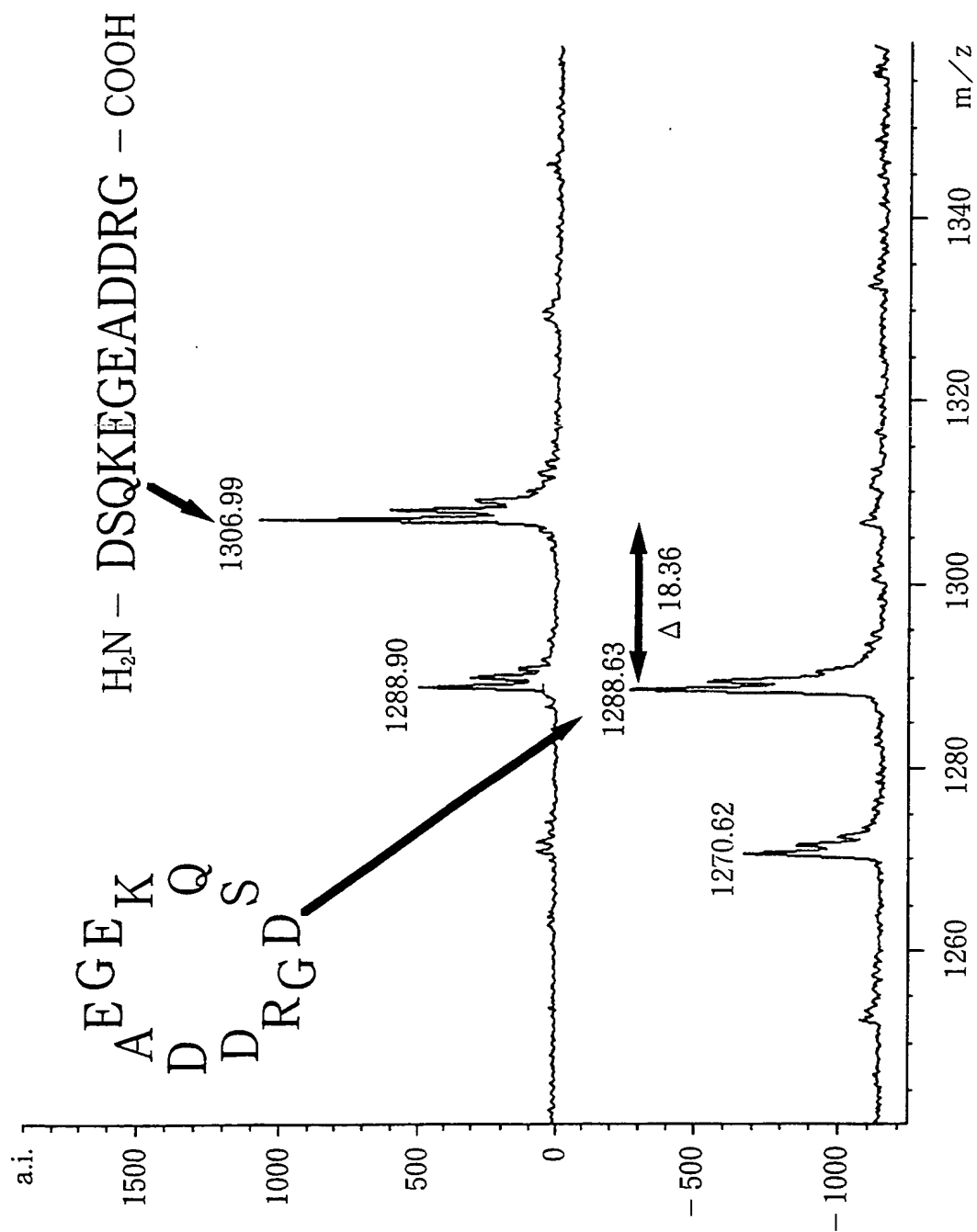
15

20

25









7

8

9

10

S E Q U E N C E L I S T I N G

- <110> Nissui Pharmaceutical Co., Ltd.
- <120> Cyclo dodecapeptide and aids vaccine
- <130> NSM003422PCT
- <160> 1
- <210> 1
- <211> 12
- <212> PRT
- <213> Artificial Sequence
- <220> peptide
- <221> ring
- <300>
- <301> Shozo Shoji
- <302> Synthesis of Cyclo-oligo peptide and its biological activity
- <303> Japan Pharmacology Academy Kyushu branch Mass meeting
Lecture
summary collection
- <306> 43
- <307> 1998-11-10
- <400> Arg Asp Asp Ala Glu Gly Glu Lys Gln Ser Asp Gly



5

6

7

8

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/06174

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ C07K7/64, C07K14/705, A61K39/21

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ C07K7/64, C07K14/705, A61K39/21

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CA (STN) , MEDLINE (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	EP, 834564, A2 (Smithkline Beecham Corporation), 08 April, 1998 (08.04.98) & JP, 10-179180, A	1, 2, 4-6, 7
Y	WO, 97/47319, A1 (PROGENICS PHARMACEUTICALS, INC.), 18 December, 1997 (18.12.97) & EP, 956044, A1	1, 2, 4-6, 7
Y	JP, 8-027184, A (Nippon Paper Industries Co., Ltd.), 30 January, 1996 (30.01.96) (Family: none)	1, 2, 4-6, 7
Y	EP, 551689, A2 (Merck & Co., Inc.), 21 July, 1993 (21.07.93) & JP, 5-170797, A	1, 2, 4-6, 7
Y	ANNE BRELOT et al. "Role of the First and Third Extracellular Domains of CXCR-4 in Human Immunodeficiency Virus Coreceptor Activity" JOURNAL OF VIROLOGY (1997) Vol.71No.6, P.4744-4751	1, 2, 4-6, 7
PY	WILLIAM C. OLSON et al. "Differential Inhibition of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Fusion, gp120 Binding, and	1, 2, 4-6, 7

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.
 ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
04 February, 2000 (04.02.00)Date of mailing of the international search report
22 February, 2000 (22.02.00)Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP99/06174

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
	CC-Chemokine Activity by Monoclonal Antibodies to CCR5" JOURNAL OF VIROLOGY (1999) Vol.73, No.5, P.4145-4155	

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.⁷ C 07 K 7/64, C 07 K 14/705, A 61 K 39/21

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl.⁷ C 07 K 7/64, C 07 K 14/705, A 61 K 39/21

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CA (STN), MEDLINE (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	EP, 834564, A2 (スミスクライン・ビーチャム・コーポレーション) 08.4月.1998 (08.04.98) & JP, 10-179180, A	1, 2, 4-6,7
Y	WO, 97/47319, A1 (PROGENICS PHARMACEUTICALS, INC.) 18.12月.1997 (18.12.97) & EP, 956044, A1	1, 2, 4-6,7
Y	JP, 8-027184, A (日本製紙株式会社) 30.1月.1996 (30.01.96) ファミリーなし	1, 2, 4-6,7
Y	EP, 551689, A2 (メルク エンド カムパニー インコーポレーテッド) 21.7月.1993 (21.07.93) & JP, 5-170797, A	1, 2, 4-6,7

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的な技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

04.02.00

国際調査報告の発送日

22.02.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

光本 美奈子

印

4 B

9359

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	ANNE BRELOT et al. "Role of the First and Third Extracellular Domains of CXCR-4 in Human Immunodeficiency Virus Coreceptor Activity" JOURNAL OF VIROLOGY (1997) Vol.71 No.6, P.4744-4751	1, 2, 4 - 6,7
P Y	WILLIAM C. OLSON et al. "Differential Inhibition of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Fusion, gp120 Binding, and CC-Chemokine Activity by Monoclonal Antibodies to CCR5" JOURNAL OF VIROLOGY (1999) Vol.73, No.5, P.4145-4155	1, 2, 4 - 6,7

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Assistant Commissioner for Patents
United States Patent and Trademark
Office
Box PCT
Washington, D.C.20231
ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year)
31 August 2000 (31.08.00)

International application No.
PCT/JP99/06174

Applicant's or agent's file reference
NSM3422PCT

International filing date (day/month/year)
05 November 1999 (05.11.99)

Priority date (day/month/year)
10 February 1999 (10.02.99)

Applicant

SHOJI, Shozo

1. The designated Office is hereby notified of its election made:



in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

21 July 2000 (21.07.00)



in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was

was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

Authorized officer

Diana Nissen

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

MITSUKUDE, Yoshihiko
T-Kanai Building
2-1, Kanda-awajicho
Chiyoda-ku
Tokyo 101-0063
JAPON



Date of mailing (day/month/year) 17 August 2000 (17.08.00)		IMPORTANT NOTICE	
Applicant's or agent's file reference NSM3422PCT			
International application No. PCT/JP99/06174	International filing date (day/month/year) 05 November 1999 (05.11.99)	Priority date (day/month/year) 10 February 1999 (10.02.99)	
Applicant NISSUI PHARMACEUTICAL CO., LTD. et al			

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:
US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:
CA

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on
17 August 2000 (17.08.00) under No. WO 00/47609

REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a demand for international preliminary examination must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))

If the applicant wishes to proceed with the international application in the national phase, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

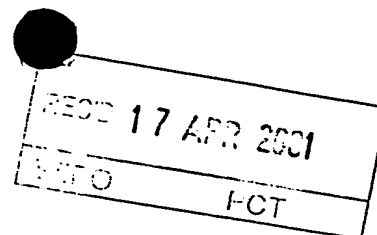
For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer J. Zahra
Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Telephone No. (41-22) 338.83.38



PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
〔PCT36条及びPCT規則70〕

出願人又は代理人 の書類記号 NSM3422PCT	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知（様式PCT/ IPEA/416）を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P99/06174	国際出願日 (日.月.年) 05.11.99	優先日 (日.月.年) 10.02.99
国際特許分類 (IPC) Int.Cl ⁷ C07K7/64, C07K14/705, A61K39/21		
出願人 (氏名又は名称) 日水製薬株式会社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条（PCT36条）の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 3 ページからなる。
- ☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び／又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び／又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で ページである。

3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
- I ☒ 国際予備審査報告の基礎
- II ☐ 優先権
- III ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
- IV ☐ 発明の単一性の欠如
- V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- VI ☐ ある種の引用文献
- VII ☐ 国際出願の不備
- VIII ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 21.07.00	国際予備審査報告を作成した日 26.03.01	
名称及びあて先 日本国特許庁 (IPEA/J P) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官 (権限のある職員) 六笠 紀子 電話番号 03-3581-1101 内線 3448	4B 9735



I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT 14条)の規定に基づく命令に
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 出願時に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 PCT 19条の規定に基づき補正されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 _____ ページ/図、 出願時に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☒ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)



V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)

請求の範囲

1-8

有

請求の範囲

無

進歩性(IS)

請求の範囲

3, 8

有

請求の範囲

1, 2, 4-7

無

産業上の利用可能性(IA)

請求の範囲

1-8

有

請求の範囲

無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

引用文献1: EP, 834564, A2 (スミスクライン・ビーチャム・コーポレーション)

08.4月.1998 (08.04.98) & JP, 10-179180, A

引用文献2: ANNE BRELOT et al. "Role of the First and Third Extracellular Domains of CXCR-4 in Human Immunodeficiency Virus Coreceptor Activity" JOURNAL OF VIROLOGY (1997) Vol. 71 No. 6, P. 4744-4751

引用文献3: EP, 551689, A2 (メルク エンド カムパニー インコーポレーテッド)
21.7月.1993 (21.07.93) & JP, 5-170797, A

請求の範囲 1, 2, 4-7

引用文献1には、HIV-1 ウイルスの細胞への侵入における主要なコファクターとして知られているヒトのケモカインレセプターCC-CKR5の遺伝子配列及びマウスのケモカインレセプターのアミノ酸配列及び遺伝子配列が記載され、CC-CKR5ポリペプチドをこれに対する抗体を製造するための免疫原として使用できること、該抗体はHIV-1感染を阻害するのに用いることができる旨が記載されている。

引用文献2には、ケモカインレセプターCXCR-4の細胞外ドメインに対する抗体がHIV-1の感染を中和したことが記載されている。

引用文献3には、環状ヒト免疫不全ウイルス主中和決定基ペプチドが記載され、環状ペプチドを含む結合体は哺乳類の抗ペプチド、抗-HIV又はHIV-中和免疫反応を高めるのに有用であることが記載されている。

ここで、引用文献1や2に記載されたレセプターに対する抗体がHIV-1感染を阻害することが知られているCC-CKR5やCXCR-4の一部のポリペプチドを選択し、引用文献3に記載されたように効率よく中和反応を起こさせるための環状ペプチドとして、HIV-1に対する中和抗体をつくるためのワクチンとすることは当業者が容易に想到し得たものと認める。

また、ポリペプチドの位置については細胞外領域から適宜選択し得たものと認める。

従って、請求の範囲1, 2, 4乃至7に係る発明は引用文献1乃至3の記載に基づいて当業者が容易になし得たものと認める。



1

PCT



国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)
〔PCT18条、PCT規則43、44〕

出願人又は代理人 の書類記号 NSM3422PCT	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220) 及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/J P 99/06174	国際出願日 (日.月.年) 05.11.99	優先日 (日.月.年) 10.02.99
出願人(氏名又は名称) 日水製薬株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☒ この国際出願に含まれる書面による配列表

☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☒ なし

☐ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl¹ C07K7/64, C07K14/705, A61K39/21

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int.Cl¹ C07K7/64, C07K14/705, A61K39/21

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
CA (STN), MEDLINE (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	EP, 834564, A2 (スミスクライン・ビーチャム・コーポレイション) 08.4月.1998 (08.04.98) & JP, 10-179180, A	1, 2, 4-6, 7
Y	WO, 97/47319, A1 (PROGENICS PHARMACEUTICALS, INC.) 18.12月.1997 (18.12.97) & EP, 956044, A1	1, 2, 4-6, 7
Y	JP, 8-027184, A (日本製紙株式会社) 30.1月.1996 (30.01.96) ファミリーなし	1, 2, 4-6, 7
Y	EP, 551689, A2 (メルク エンド カムパニー インコーポレーテッド) 21.7月.1993 (21.07.93) & JP, 5-170797, A	1, 2, 4-6, 7

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

04.02.00

国際調査報告の発送日

22.02.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

光本 美奈子

4B

9359

電話番号 03-3581-1101 内線 3448

C (続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	ANNE BRELOT et al. "Role of the First and Third Extracellular Domains of CXCR-4 in Human Immunodeficiency Virus Coreceptor Activity" JOURNAL OF VIROLOGY (1997) Vol.71 No.6, P.4744-4751	1, 2, 4 - 6,7
P Y	WILLIAM C. OLSON et al. "Differential Inhibition of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Fusion, gp120 Binding, and CC-Chemokine Activity by Monoclonal Antibodies to CCR5" JOURNAL OF VIROLOGY (1999) Vol.73, No.5, P.4145-4155	1, 2, 4 - 6,7

